

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 164 573**

⑫ Número de solicitud: 009902672

⑬ Int. Cl.⁷: G01N 33/02
G01N 33/52

⑭

PATENTE DE INVENCION

B1

⑮ Fecha de presentación: **03.12.1999**⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2002**Fecha de concesión: **06.06.2003**⑰ Fecha de anuncio de la concesión: **16.07.2003**⑱ Fecha de publicación del folleto de patente:
16.07.2003⑲ Titular/es: **Consejo Superior de
Investigaciones Científicas
Serrano, 117
28006 Madrid, ES**⑳ Inventor/es: **Val Falcón, Jesús**㉑ Agente: **No consta**㉒ Título: **Procedimiento visual de la distribución de calcio en secciones de frutos.**

㉓ Resumen:

Procedimiento visual de la distribución de calcio en secciones de frutos.

El método propuesto permite revelar la distribución del calcio en secciones de frutos. Consiste en una sencilla reacción de desarrollo de color al poner en contacto una sección de fruto sobre un papel de filtro especial impregnado de una mezcla de reactivos, (Gloxalbis(2-hidroxi-apilo) puro, NaOH al 10 % y Cloroformo puro).

ES 2 164 573 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. C/Panamá, 1 – 28036 Madrid

DESCRIPCION

Procedimiento visual de la distribución de calcio en secciones de frutos.

Sector de la técnica

Industria frutícola: agricultores, empresas de conservación, comerciales, etc..

Laboratorios de investigación y desarrollo dedicados a la fruticultura, nutrición, fisiología y bioquímica vegetales.

Estado de la técnica

En las plantas, el calcio es un elemento esencial para el mantenimiento de las estructuras celulares y su deficiencia provoca una desorganización general de los tejidos, ya que es un constituyente de las paredes celulares en forma de pectato [para conocer en detalle el papel del calcio en el metabolismo vegetal ver Monge, E., Val, J., Sanz, M., Blanco, A., Montañés, L. (1994) El calcio nutriente para las plantas. Bitter pit en manzano.. An Estac Exp Aula Dei 21(3): 189-201.]. El calcio interviene en la permeabilidad de las membranas celulares y en la hidratación de sus coloides. Puede encontrarse en combinación con ácidos orgánicos, como el oxálico, para formar oxalato cálcico altamente insoluble. También se han encontrado evidencias de que el calcio favorece la traslocación de carbohidratos, aminoácidos y determinados procesos de desarrollo celular. Recientemente se ha descubierto que interviene directamente en el control de la respiración [Hansford, R. (1994) Role of calcium in respiratory control. Med. Sci.Sports Exerc., 26(1):44-51.], en la regulación de la turgencia, respuestas trópicas, ciclo y movilidad celulares [Takagi, S. y Nagai, R. (1992) Several Aspects of Current Research into the Role of Calcium in Plant Physiology. Botanical Magazine - Tokyo 105(1080):687-697.]

Las alteraciones en la dinámica y distribución del calcio en especies frutales, tienen especial importancia en manzano, ocasionando la aparición de un moteado pardusco en la parte calicina del fruto, alteración típica del desorden fisiológico, conocida como mancha amarga (bitter-pit). Esta fisiopatía se declara por la muerte y deshidratación de células en zonas aisladas del mesocarpio (1-2 mm debajo de la piel) llegando a afectar a todo el volumen de este en casos extremos. Esto supone una lógica disminución del valor comercial del producto ya que, además del daño en su apariencia externa, las manzanas pueden presentar una piel grasa, un deterioro en la textura de la pulpa y un descenso en la concentración de ácidos y azúcares. En unas circunstancias en las que prevalece la calidad del producto, resulta difícil la salida comercial de las manzanas afectadas, más aun en el contexto del mercado europeo. Este desorden, extendido en todas las zonas del mundo dedicadas al cultivo del manzano, alcanza su cenit durante el proceso de conservación, cuando ya se ha invertido un capital importante en la recolección, transporte, y horas de frío, para dar como resultado un valor comercial prácticamente nulo.

Métodos o procedimientos que permitan visualizar el calcio en la superficie del fruto:

Tras una revisión extensiva, hasta el momento no se ha descrito, en toda la bibliografía consultada, método alguno que permita detectar, de forma visual, la presencia de calcio en la superficie del fruto. Sin embargo, la invención está inspirada en el procedimiento descrito por Burriel, F., Lucena, F., Arribas, S. Hernández, J. (1989) Química Analítica Cuantitativa. Editorial Paraninfo, S.A. Madrid. ISBN: 84-283-1253-2 para detectar calcio en problemas de Química Analítica Cualitativa (pag 706).

Descripción de la invención

Breve descripción de la invención

El método propuesto permite revelar la distribución del calcio en secciones de frutos. Consiste en una sencilla reacción de desarrollo de color al poner en contacto una sección de fruto sobre un papel de filtro especial impregnado de una mezcla de reactivos.

Hasta el momento, no existe en el mercado y ni está descrito en la bibliografía consultada un método capaz de revelar de forma sencilla y rápida la presencia de calcio y su distribución dentro del fruto. El desarrollo del este procedimiento permite el estudio de las alteraciones en la dinámica y distribución del calcio en especies frutales que tienen especial importancia en manzano, ocasionando la aparición de un moteado pardusco en la parte calicina del fruto, síntoma típico del desorden fisiológico, conocido como mancha amarga (bitter-pit). Esto supone una lógica disminución del valor comercial del producto ya que, además del daño en su apariencia externa, las manzanas pueden presentar una piel grasa, un deterioro en la textura de la pulpa y un descenso en la concentración de ácidos y azúcares. En las circunstancias actuales, en las que prevalece la calidad del producto, resulta difícil la salida al mercado de las manzanas afectadas, más aun en el contexto del mercado europeo.

Descripción detallada de la invención

Como se ha mencionado en el apartado anterior la deficiencia de calcio en manzanas produce una disminución de la calidad del fruto que se traduce en un notable descenso de su calidad haciendo imposible su comercialización. De ser cierta esta hipótesis, refrendada por abundante bibliografía [para una revisión exhaustiva ver Monge, E., Val, J., Sanz, M., Blanco, A., Montañés, L. (1994). El calcio nutriente para las plantas. Bitter pit en manzano.. An Estac Exp Aula Dei 21(3): 189-201.], mediante el uso del método propuesto podrían discriminarse, antes de entrar en la cámara de conservación, las partidas de manzanas con menor contenido en calcio y por lo tanto potencialmente susceptibles de sufrir bitter-pit. Esto supondría evitar cuantiosos costes debidos a las mermas en la producción, tiempo de almacenamiento (en cámara) y mano de obra necesaria para la selección, a mano, de la fruta en el momento de su salida al mercado.

Procedimiento:

Reactivos:

- 1.- Glioxalbis(2-hidroxi-anilo).
- 2.- NaOH
- 3.- Cloroformo

Compuesto	Concentración	Preparación	Solvente
Glioxalbis (2-hidroxi-anilo)	Puro (sólido)		
Etanol	Puro		
NaOH	10 %	1g 10 mL ⁻¹	Agua
Cloroformo	Puro		

1. Se prepara una solución que contenga 5 mL de etanol, 1 mL de Sosa (NaOH) al 10 % (peso/volumen) y 5 mL de cloroformo. La solución puede almacenarse en nevera y permanece estable al menos 2 meses.
2. Se toman 0,1 gramos de Glioxalbis(2 - hidroxi - anilo) y se mezclan con la solución descrita en el punto 1. La nueva solución (solución de trabajo) permanece estable al menos 2 horas.
3. Se practica un corte transversal o longitudinal en la manzana, con un cortafiambres, para obtener una superficie de corte lo más perfecta posible.
4. Se toma una alícuota de la solución de trabajo con una pipeta pasteur y se extiende sobre papel de filtro circular exento de cal-

cio. Este punto es muy importante, ya que gran parte de las marcas que existen en el mercado no ofrecen la pureza necesaria. En cualquier caso, es recomendable hacer un blanco con la solución de trabajo y el papel de filtro. Si se produce color rojo, hay que desechar el papel.

5. Se presiona, durante 10 segundos, la superficie recién cortada de la manzana sobre el papel de filtro.
6. Se retira la manzana y aparece sobre el papel una coloración rojo-morada que indica la presencia de calcio en el tejido.
7. Se deja secar el papel de filtro y al cabo de 10 minutos se obtiene la imagen definitiva en la que se aprecia la forma de la sección de manzana utilizada y las zonas donde existe mayor o menor concentración de calcio.

Siguiendo el procedimiento descrito en el apartado anterior es posible detectar la presencia de calcio en secciones de manzana, pera, kiwi, patata, plátano, etc. Esto es especialmente posible cuando se trate de frutos con pulpa de color blanco para no interferir con el color rojo proporcionado por la reacción.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento visual de la distribución de calcio en secciones de frutos, **caracterizado** porque consiste en poner en contacto una sección de fruto sobre un papel de filtro especial impregnado de una mezcla de reactivos.

2. Procedimiento según reivindicación 1 **caracterizado** porque la mezcla de reactivos está compuesta por Glioxalbis(2-hidroxi-anilo) puro, NaOH al 100 % y Cloroformo puro.

3. Procedimiento según reivindicaciones anteriores **caracterizado** por las siguientes etapas:

1° Se prepara una solución que contenga 5 mL- de etanol, 1 mL- de Sosa (NaOH) al 10 % (peso/volumen) y 5 mL de cloroformo. La solución puede almacenarse en nevera y permanece estable al menos 2 meses.

2° Se toman 0,1 gramos de Glioxalbis(2 - hidroxi - anilo) y se mezclan con la solución descrita en el punto 1. La nueva solución (solución de trabajo) permanece estable al menos 2 horas.

3° Se practica un corte transversal o longitu-

dinal en la manzana, con un cortafiambres, para obtener una superficie de corte lo más perfecta posible.

4° Se toma una alícuota de la solución de trabajo con una pipeta pastear y se extiende sobre papel de filtro circular exento de calcio. Este punto es muy importante, ya que gran parte de las marcas que existen en el mercado no ofrecen la pureza necesaria. En cualquier caso, es recomendable hacer un blanco con la solución de trabajo y el papel de filtro. Si se produce color rojo, hay que desechar el papel.

5° Se presiona, durante 10 segundos, la superficie recién cortada de la manzana sobre el papel de filtro.

6° Se retira la manzana y aparece sobre el papel una coloración rojo-morada que indica la presencia de calcio en el tejido.

7° Se deja secar el papel de filtro y al cabo de 10 minutos se obtiene la imagen definitiva en la que se aprecia la forma de la sección de manzana utilizada y las zonas donde existe mayor o menor concentración de calcio.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA

- ⑪ ES 2 164 573
⑫ N.º solicitud: 009902672
⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 03.12.1999
⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.⁷: G01N 33/02, 33/52

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	BURRIEL, F. et al. Química Analítica Cualitativa. Editorial Paraninfo, S.A., 1989. ISBN: 84-283-1253-2, página 706.	
A	JOHRI, K.N. et al. "Selective Determination of calcium in mineral waters by using colorimetry". Anal. Chim. Acta, 57 (1971), páginas 217-218.	

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe
15.01.2002

Examinador
J. López Nieto

Página
1/1